

NÜKLEİK ASİD TEKNİKLERİ

(DNA VE RNA)

NÜKLEİK ASİTLER

- Nükleik asitler, nükleotit denilen monomerlerden oluşmuş yüksek molekül ağırlıklı biyopolimerlerdir.



Nükleozit= pürin/pirimidin baz + şeker

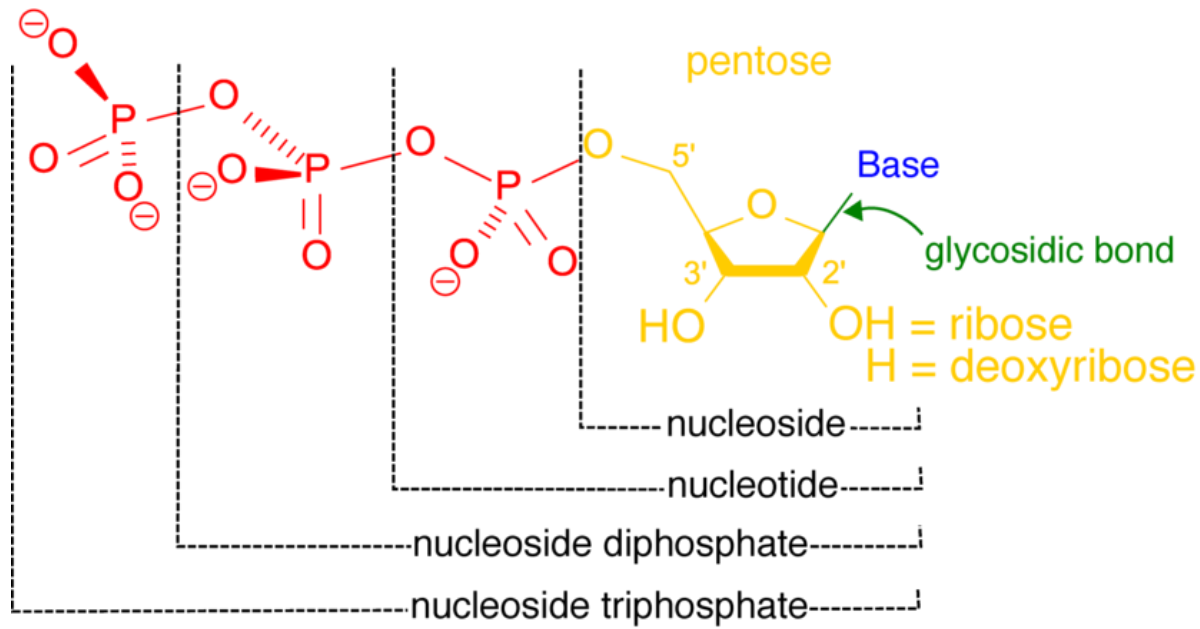
Nükleotit= nükleozit + fosfat

Nükleotidler bağlanarak nükleotid zincirlerini (nükleik asit polimerlerini) meydana getirirler. Bu bağlanma şeker-fosfat arasında **fosfodiester** bağlarıyla sağlanır.

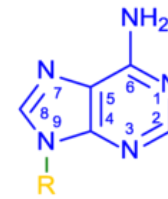
İki çeşit nükleik asit vardır. Nükleik asitler içerdikleri karbohidratlara göre isimlendirilirler:

α -D-riboz içerenlere **ribonükleik asit (RNA)**

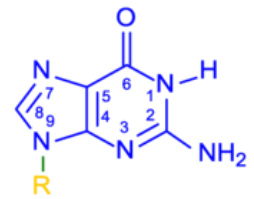
α -D-deoksiriboz içerenlere **deoksiribonükleik asit) DNA** denir.



Purines

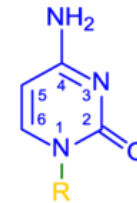


Adenine

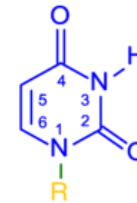


Guanine

Pyrimidines



Cytosine



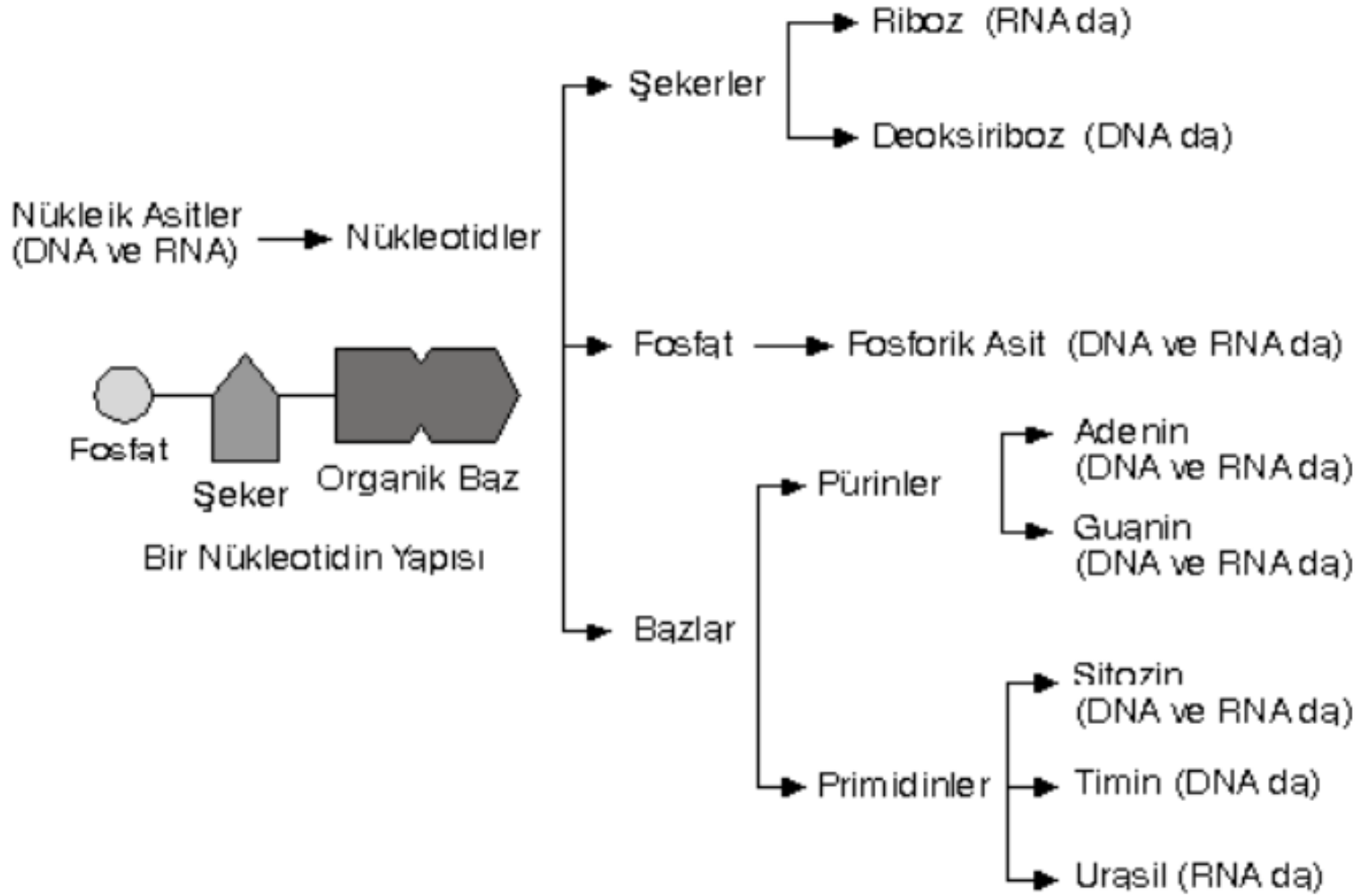
Uracil



Thymine

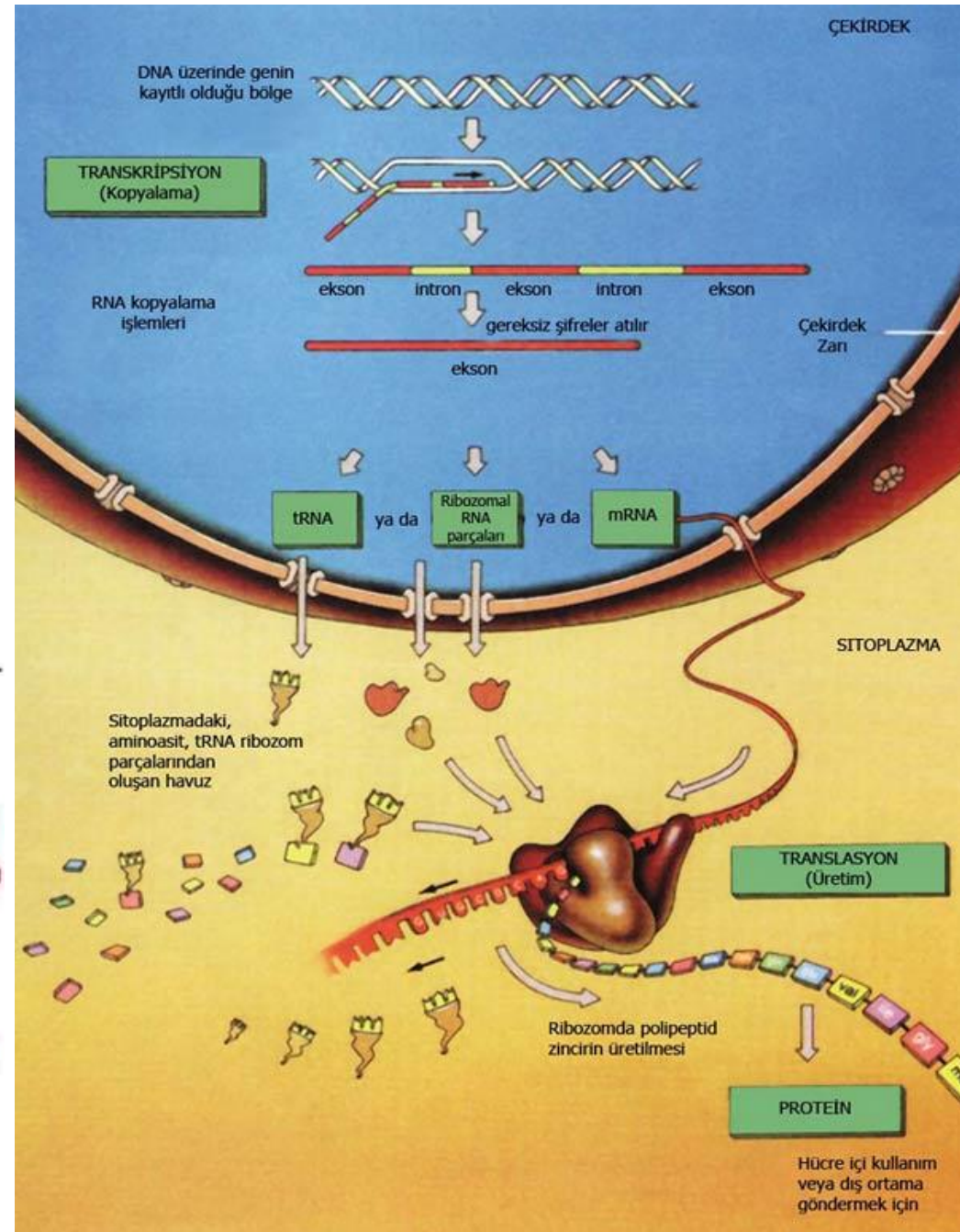
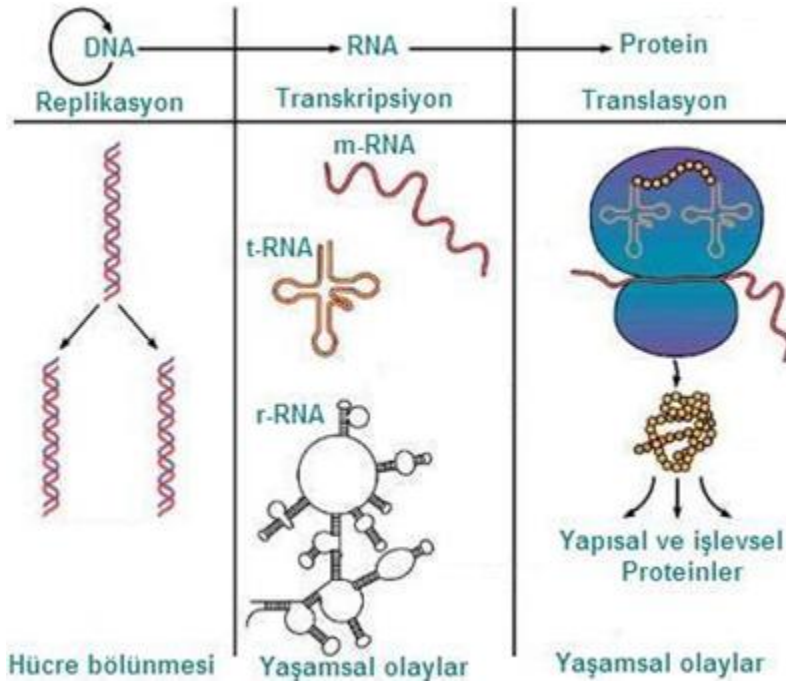
Nükleozit, nükleotit adlandırması

Baz	Nükleozit	Nükleotit	Nükleik asit
Pürinler			
Adenin	Adenozin	Adenilat (adenozin monofosfat)	RNA
	Deoksiadenozin	Deoksiadenilat	DNA
Guanin	Guanozin	Guanilat	RNA
	Deoksiguanozin	Deoksiguanylat	DNA
Pirimidinler			
Sitozin	Sitidin	Sitidilat	RNA
	Deoksisitidin	Deoksisitidilat	DNA
Urasil	Üridin	Üridilat	RNA
Timin	Timidin	Timidilat	DNA



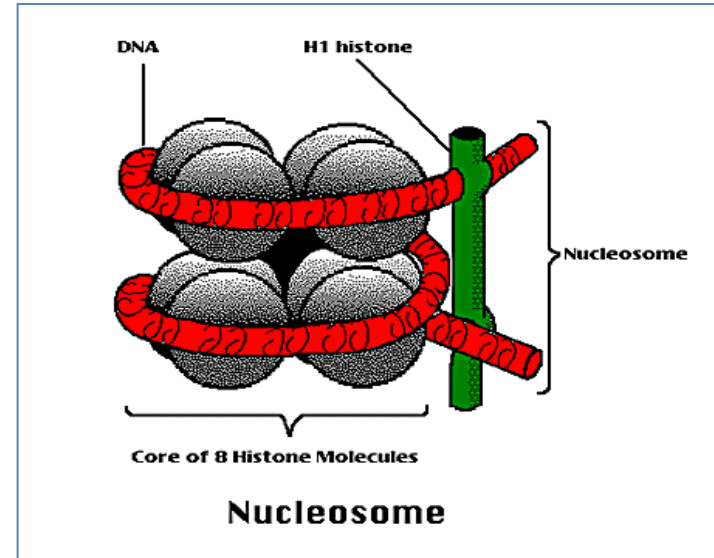
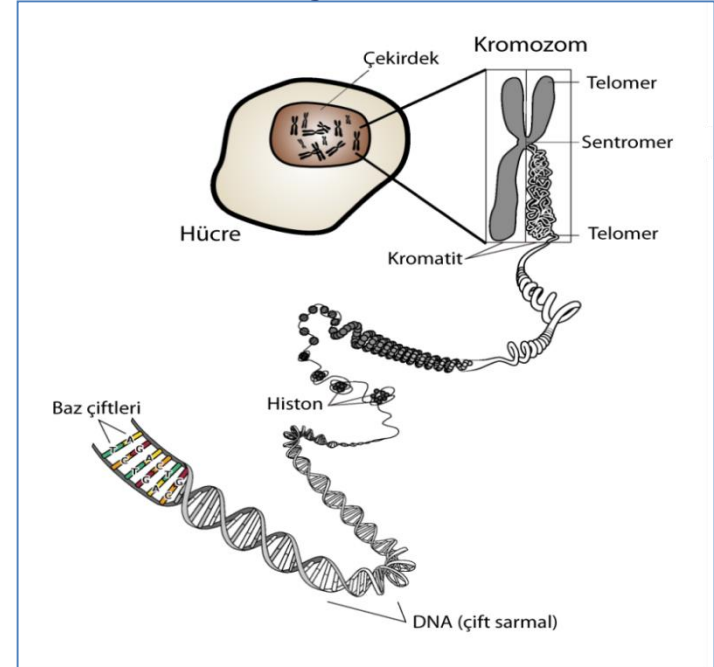
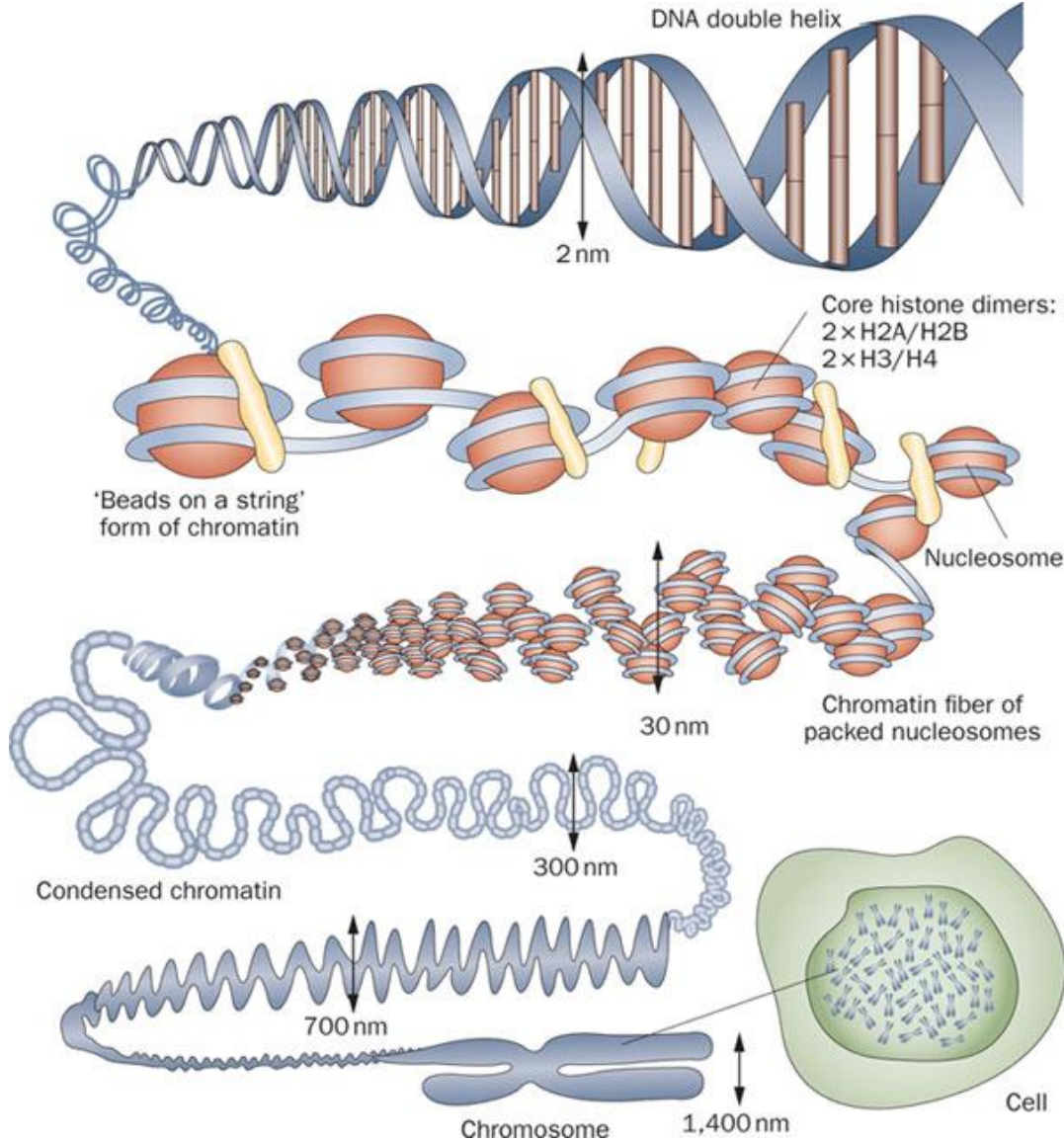
Şekil : Nükleik Asitlerin Yapı Elemanları

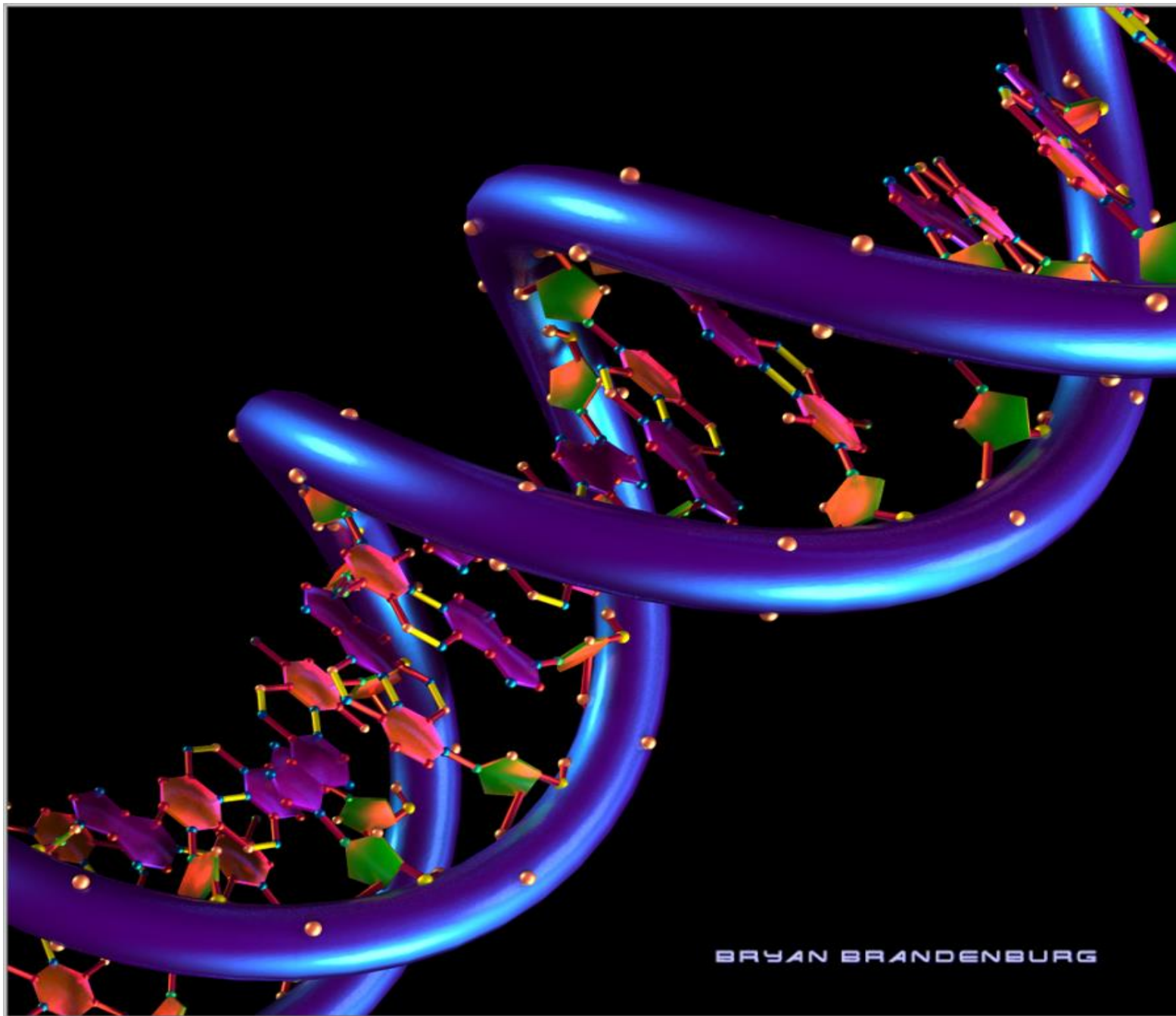
- Nükleik asitlerin başlıca fonksiyonu **genetik bilgi aktarımını** sağlamaktır.
- Bazı RNA türleri (**Ribozimler**) **katalizör** olarak da işlev görürler.



DNA'nın Moleküler Yapısı

İnsan kromozomunu oluşturan DNA milyonlarca nükleotidden oluşur.



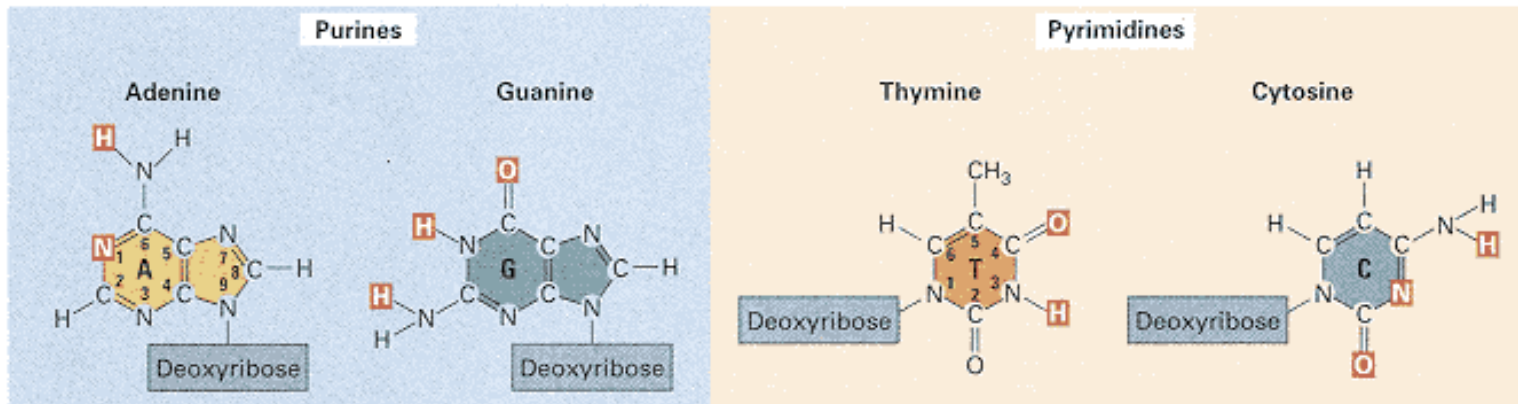
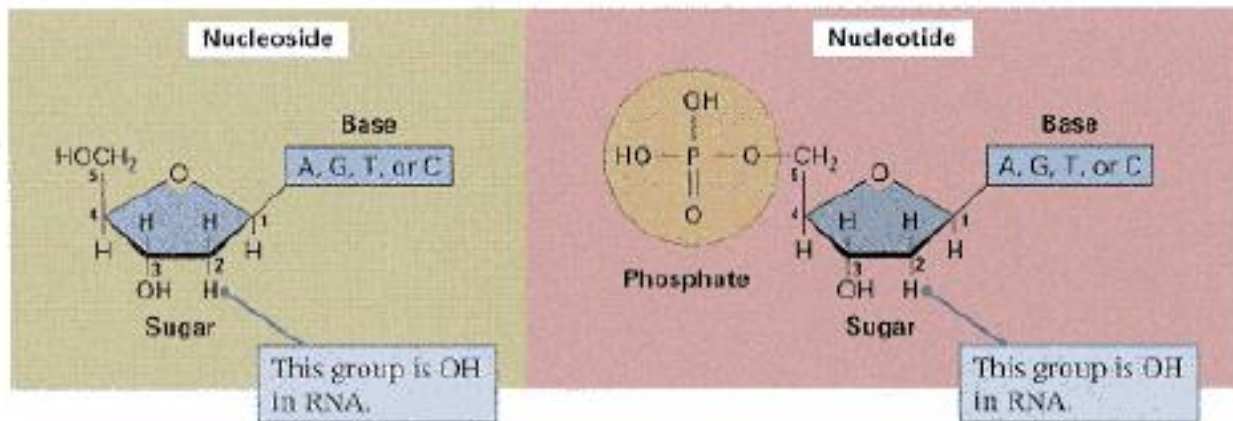


BRYAN BRANDENBURG

BAZ	NÜKLEOSİT	NÜKLEOTİT
Adenin (A)	Deoksiadenozin	Deoksiadenozin-5` monofosfat (dAMP) Difosfat (dADP) Trifosfat(dATP)
Guanin (G)	DeoksiGuanozin	Deoksiguanozin-5` monofosfat (dGMP) Difosfat (dGDP) Trifosfat(dGTP)
Timin (T)	Deoksitimidin	Deoksitimidin-5` monofosfat (dTMP) Difosfat (dTDP) Trifosfat(dTTP)
Sitozin (C)	Deoksisitidin	Deoksisitidin-5` monofosfat (dCMP) Difosfat (dCDP) Trifosfat(dCTP)

DNA' nın moleküler yapısı

- DNA (Deoksiribonükleik asit) bir polimerdir.



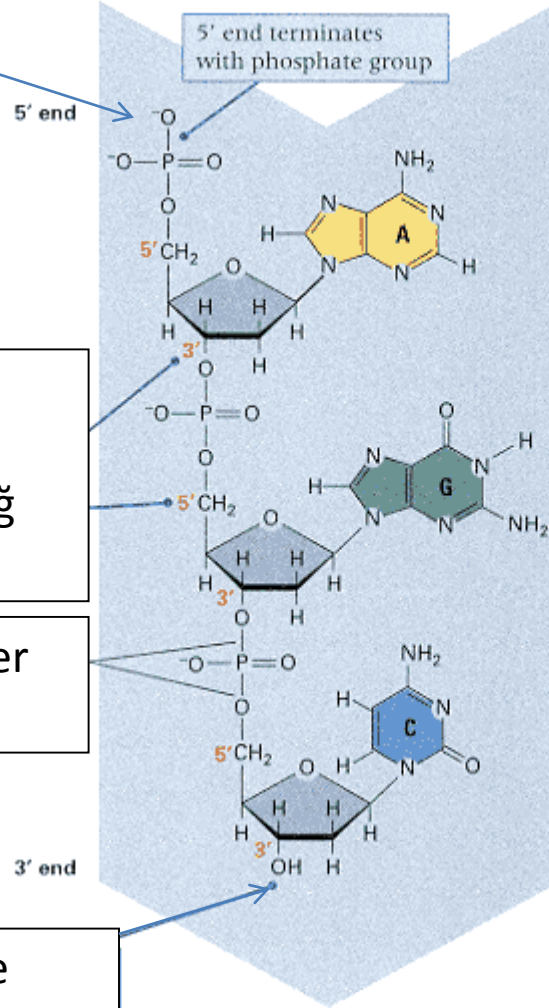
(A)

5' uç fosfat grubu ile sonlanır

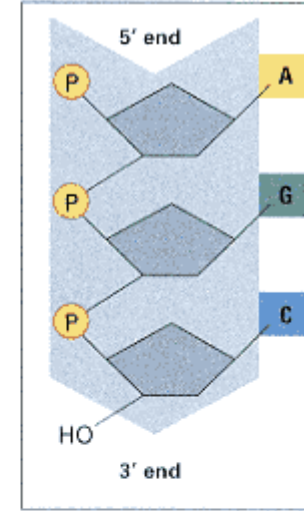
Fosfat 5' ve 3' karbon atomlarıyla bağ yapar

Fosfodiester bağları

3' uç OH grubu ile sonlanır

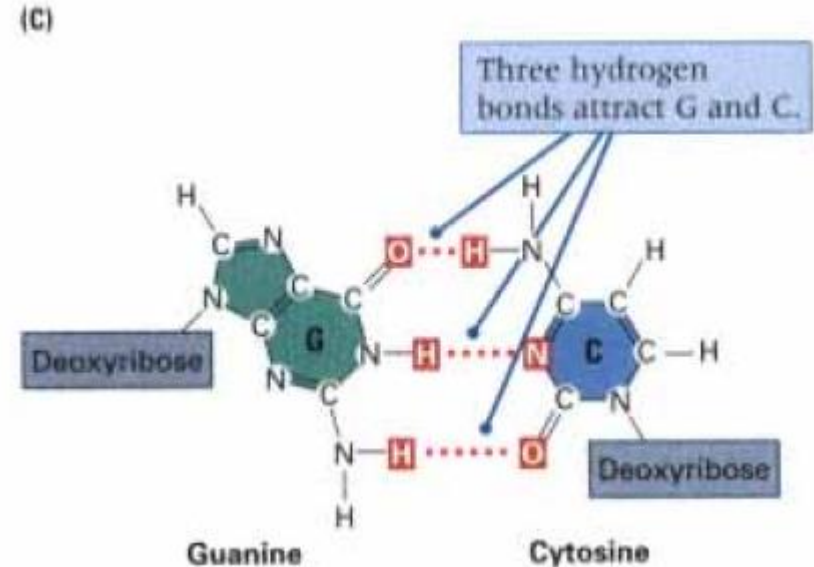
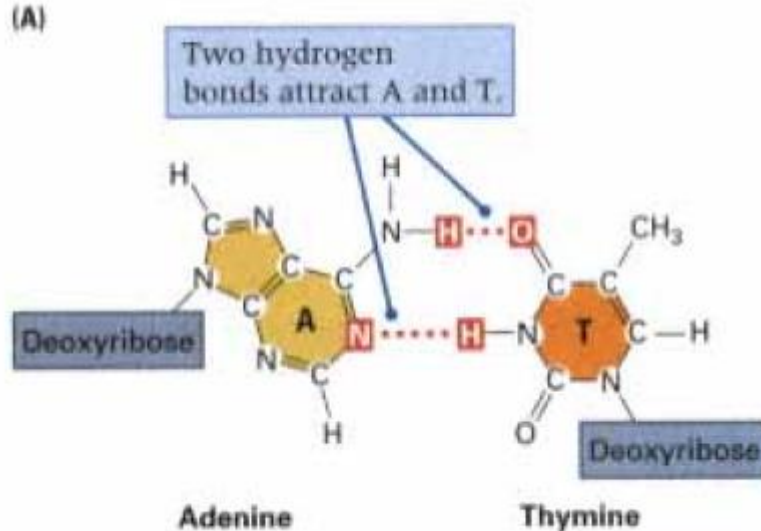


(B)

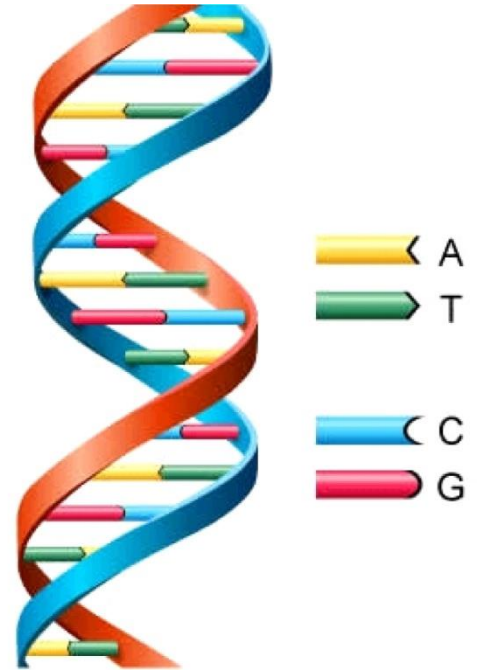


DNA'da

- $[A]=[T]$
- $[G]=[C]$
- $[A]+[G]=[T]+[C]$ ' dir
- Çift zincirdeki Adenin ile Timin arasında iki, Guanin ile Sitozin arasında üç tane hidrojen bağı bulunur



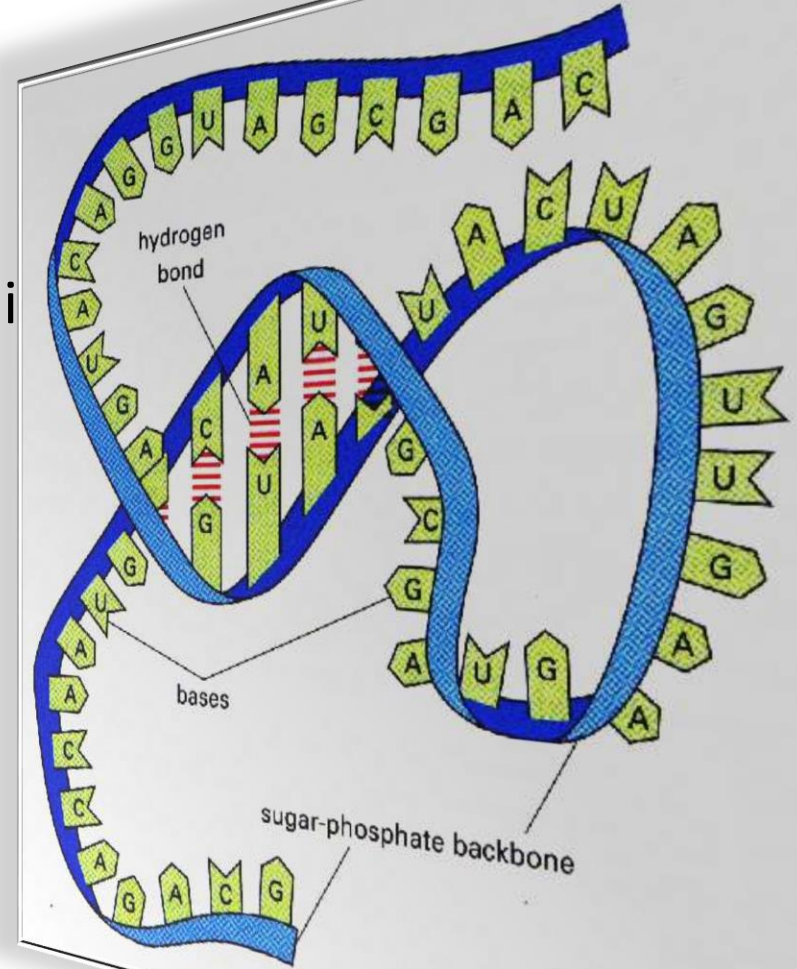
DNA YAPISI

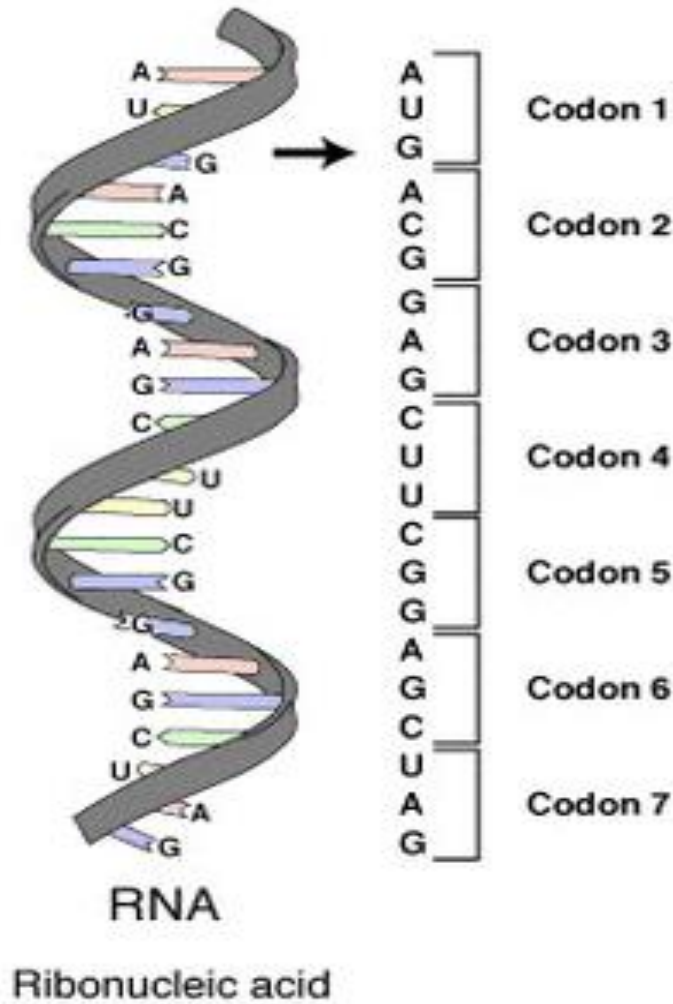


- ☐ ***Deoksribo nükleik asit***
- ☐ Genetik bilgiyi kodlar
- ☐ Çift iplikli yapıdadır
- ☐ Nükleotidlerden oluşur
- ☐ DNA'nın yapısında kalıtsal özelliklerimize etki eden yapılar olan genler bulunur.
- ☐ Korunma mekanizmaları vardır.
- ☐ Mutasyonlar geçirerek değişikliğe uğramış bölgeleri vardır.

RNA YAPISI

- ❑ RNA'daki her nükleotit bir riboz şekeri içerir.
- ❑ RNA da Timin yerine Urasil bulunur.
- ❑ RNA'yı DNA'dan farklı kılan önemli bir fark, RNA'nin çift sarmallı kısımları A-şekilli olur, DNA'da yaygın olarak görülen B şekillidir. A-şekilli sarmalın büyük oyuğu B şekilli sarmala kıyasla daha derin ve dardır, küçük oyuğu ise sığ ve geniştir.
- ❑ RNA'nın esnek olan bölgelerinde (yani çift sarmal oluşturmamış kısımlarında) RNA hassastır ve kırılabilir.





Bir mRNA molekülündeki bir seri kodon.
Her kodon üç nükleotitten oluşmaktadır, bunlar genelde bir amino aside karşılık gelir.

RNA kodon tablosu

Bu tablo 64 kodonu ve her kodonun kodladığı aminoasitleri göstermektedir.

Ala	GCU, GCC, GCA, GCG	Leu	UUA, UUG, CUU, CUC, CUA, CUG
Arg	CGU, CGC, CGA, CGG, AGA, AGG	Lys	AAA, AAG
Asn	AAU, AAC	Met	AUG
Asp	GAU, GAC	Phe	UUU, UUC
Cys	UGU, UGC	Pro	CCU, CCC, CCA, CCG
Gln	CAA, CAG	Ser	UCU, UCC, UCA, UCG, AGU, AGC
Glu	GAA, GAG	Thr	ACU, ACC, ACA, ACG
Gly	GGU, GGC, GGA, GGG	Trp	UGG
His	CAU, CAC	Tyr	UAU, UAC
Ile	AUU, AUC, AUA	Val	GUU, GUC, GUA, GUG
START	AUG, GUG	STOP	UAG, UGA, UAA

DNA	RNA
Çekirdek, mitokondri ve kloroplastta bulunur.	Çekirdek, çekirdekçik, sitoplazma, ribozom, mitokondri ve kloroplastta bulunur.
Yapısında deoksiriboz şekeri bulunur.	Yapısında riboz şekeri bulunur.
A, G, S, T nükleotidlerinden oluşur.	A, G, S, U nükleotidlerinden oluşur.
Kendine özgü bazı Timindir.	Kendine özgü bazı Urasildir.
Kalıtımı sağlar. Protein sentezinde emir verir.	Protein sentezinde görevi vardır.
Çift sarmallı yapıya sahiptir.	Tek sarmallı yapıya sahiptir. → genellikle
Hidroliz enzimi DNA azdır.	Hidroliz enzimi RNA azdır.
Kendini eşler.	Kendini eşleyemez. DNA tarafından yapılır.
DNA polimeraz enzimi tarafından sentezlenir.	RNA polimeraz enzimi tarafından sentezlenir.

Tablo : DNA ile RNA'nın Karşılaştırılması

Nükleik asit analizleri için kullanılan temel yöntemler

1. Örneğin hazırlanması (DNA, RNA izolasyonu vs.),
2. Elektroforetik ayırım,
3. Amplifikasyon yöntemleri (PCR, RT-PCR),
4. RFLP analizi,
5. AFLP (DNA parmak izi)
6. Hibridizasyon yöntemleri,
7. Dizi (sekans)analizi
8. Klonlama
9. Rekombinant DNA teknolojisi

DNA izolasyonu

- Canlı hücrelere ait hücre zarı veya canlı hücre duvarının bazı kimyasal maddeler ve enzimler ile yıkılıp DNA'nın ortaya çıkarılmasına **DNA izolasyonu** denir.

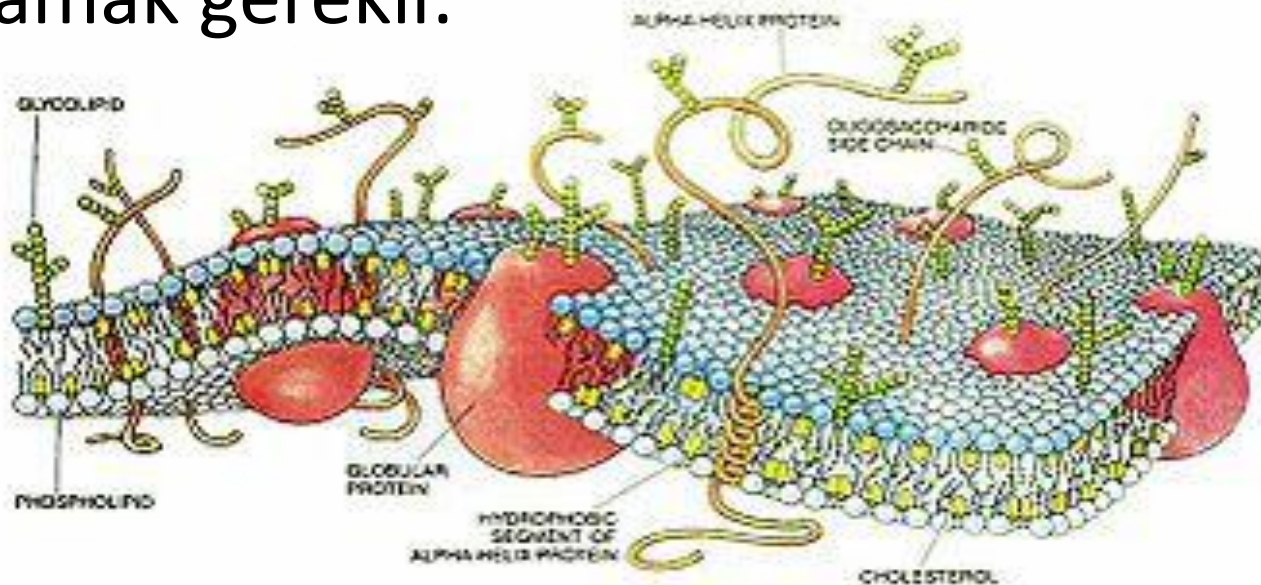
DNA izolasyonu moleküler biyolojinin en temel tekniklerinden birisidir.

Yüksek molekül ağırlıklı DNA izolasyonu;

- DNA parmak izi analizi,
- DNA-protein etkileşiminin incelenmesi,
- RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism),
- Genomik kütüphane hazırlanmasında
- Gen ekspresyonu ve genom yapısının analizinde
- Araştırma laboratuvarları ve endüstride PCR analizlerindeki artış ile çok önemli hale gelmiştir.

DNA & RNA IZOLASYONU

- ❑ Ökaryotlarda DNA ve RNA çekirdekte bulunur.
- ❑ Prokaryotlarda sitoplazmada serbest.
- ❑ Nükleik asitlere ulaşabilmek için hücre zarlarını parçalamak gerekir.



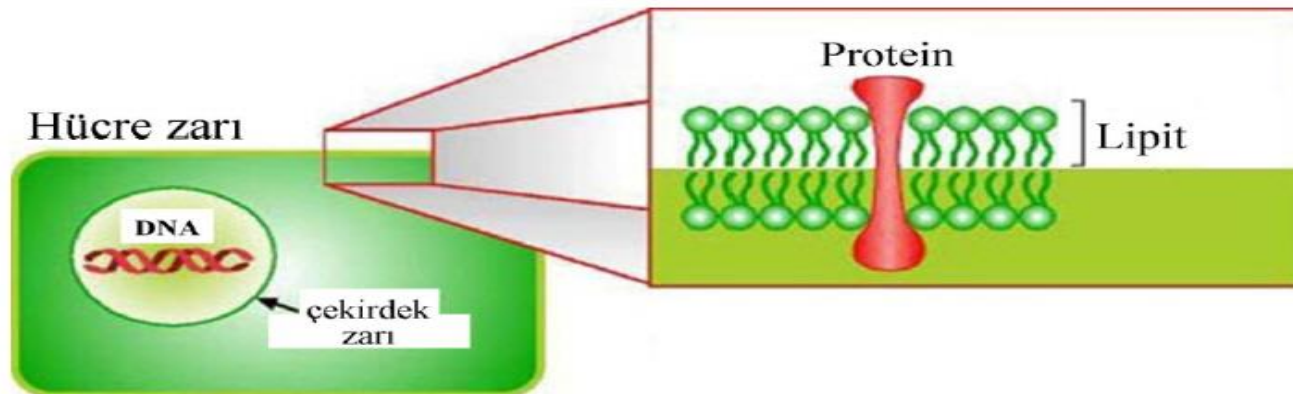
DNA & RNA IZOLASYONU

En sık kullanılan 3 metod ;

- a) Kimyasal yolla izolasyon
- b) Spin kolon tekniği
- c) Magnetik bilye ile izolasyon

DNA & RNA IZOLASYONU

1. Hücrelerin parçalanması (Lysis)
2. Proteinlerin ve safsızlıkların uzaklaştırılması (purifikasyon)
3. DNA'nın presipite edilmesi (Presipitasyon)



DNA & RNA İZOLASYONU

a) KİMYASAL YOLLA İZOLASYON

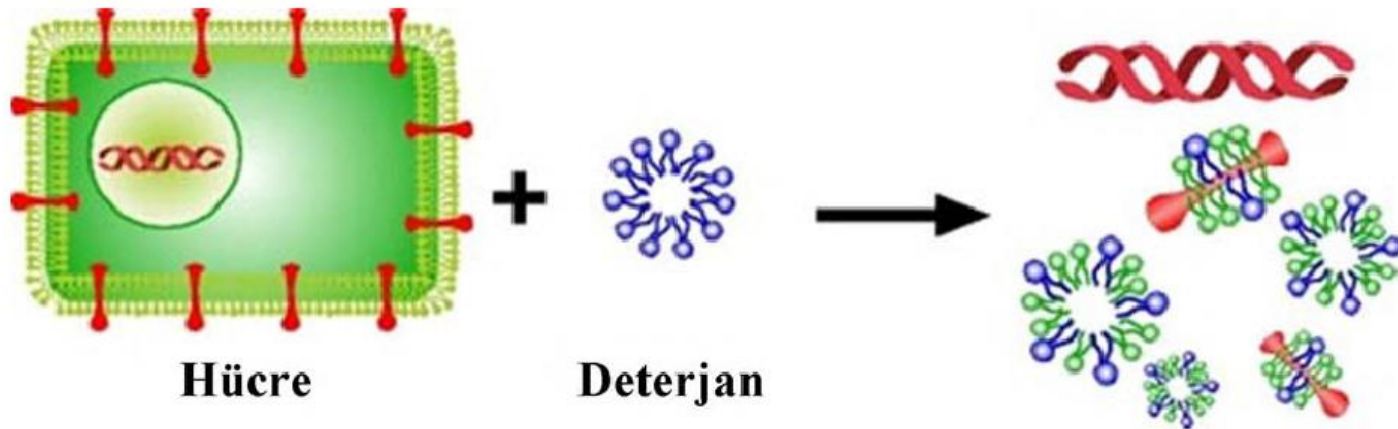
- ✓ Manuel teknik
- ✓ Fenolkloroform en sık kullanılan

Hücre Bütünlüğünün Bozulması

- **Kimyasal:** Organik Solventler, deterjanlar
- **Enzimatik:** Proteinaz K (hücre zarı parçalama, protein denaturasyonu)
Lizozim, glukanaz (hücre duv. parçalanmasında)
- **Fiziksel:** Osmotik şok, dondurma/çözdürme
- **Mekanik:** Sonikasyon, homojenizasyon, fransız presi

Hücrelerin parçalanması (Hücre Lizisi)

- Hücrenin parçalanması ile yüksek molekül ağırlıklı DNA'nın açığa çıkması,



Şekil 3. Hücre membranının parçalanması ve genomik DNA'nın ekstrasyonu

Hücrelerin Parçalanması

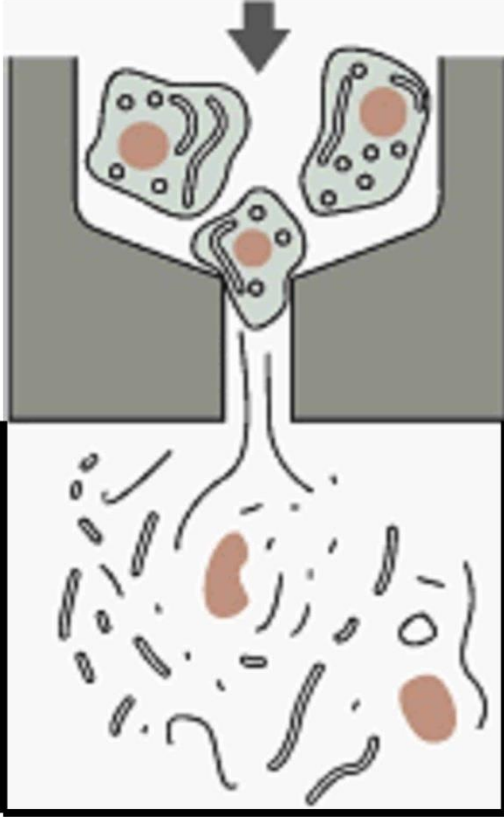
- Hücrenin parçalanması, DNA ve RNA izolasyonundaki ilk ve izole edilen DNA ve RNA' nın verim ve kalitesini etkileyen en kritik aşamalardan biridir.
- Hücre parçalanması hızlı ve etkili olmalıdır.
- Parçalama sonunda bağ dokusu ve kemik gibi katı dokular dışındaki dokularda gözle görülen partiküllerin bulunmaması gerekmektedir.
- Hücre ve doku parçalanmasında en uygun metodun seçilmesi kalite ve verimin arttırılması bakımından oldukça önemlidir. Kullanılan organizmanın türüne göre parçalama metodu seçilmektedir.

Kimyasal Yöntemler

Deterjanlar: Triton X-100, SDS vb.

- Membran yapısını bozarak hücre içeriğinin ortama geçmesini sağlarlar

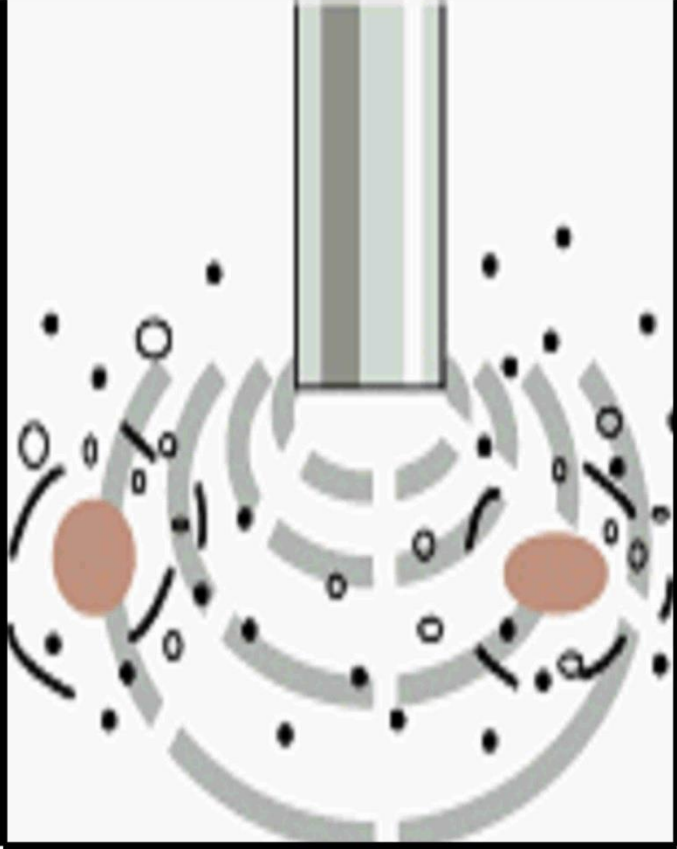
Mekanik yöntemler



Fransız Presi

Çelik bir kaba yerleştirilen hücre süspansiyonu üzerine uygulanan yüksek basınçla, hücreler küçük bir delikten geçirilir

Mekanik yöntemler

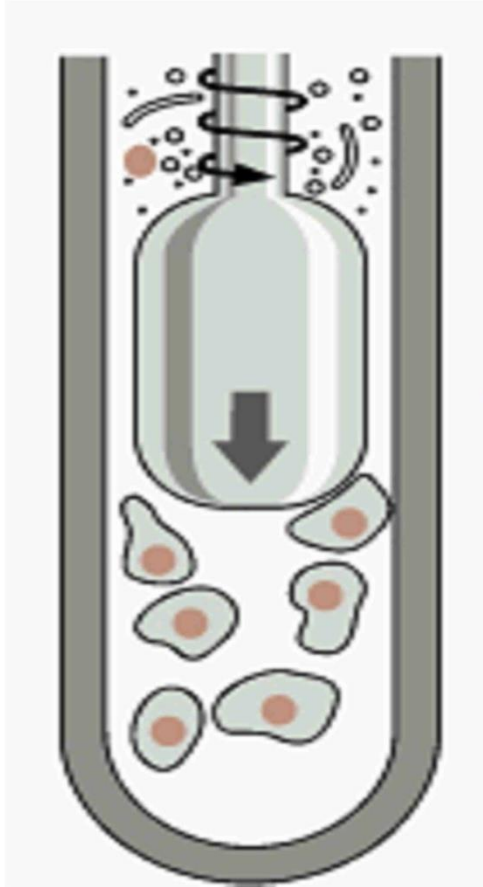


Sonikasyon

Hücre süspansiyonuna daldırılan **sonikatör**, titreşim yaparak ve yüksek ses dalgalarıyla hücre bütünlüğünü bozar

Mekanik yöntemler

Homojenizasyon



Cam homojenizatör kabında pistonun düzenli dönüşü ya da vuruş ile sağlanan mekanik güçle, hücreler piston ve cam çeper arasında sıkıştırılır → hücre zarı parçalanır, hücre içeriği tampona geçer, elde edilen süspansiyon, bütünlüğü bozulmamış bir çok organeli içerir: **HOMOJENAT** olarak adlandırılır

Hücrelerin Parçalanması Çözeltileri

- **Tris (Trishydroxymethylaminomethane)**
Tamponlama maddesi, pH 6-8, DNA'nın çözünür ve stabil kalması
- **EDTA (Ethylenediamine-tetraacetic acid):** DNAaz'ların inhibisyonu . Magnezyumu bağlayarak DNaz aktivitesini inhibe eder böylece DNA stabil halde kalabilir
- **NaCl :** Fizyolojik şartlarda 100-150mM olmalı, istenmeyen çökelmeleri önler
- **SDS (Sodyum dodecyl sulfate):** iyonik deterjandır. Membranların ve proteinlerin denatürasyonu
- **Proteinaz K:** DNA'ya bağlı olan proteinleri (histonlar) parçalar. 55°C'de iyi çalışır.

DNA Pürifikasyonu

(Fenol/Kloroform/İzoamilalkol)

- Fenol ve Kloroform Organik solventler
- Hidrofobik hücre komponentleri bu solventlere hapsolur: membran lipitleri, hidrofobik polipeptidler, polisakkaritler gibi.
- Güçlü denaturasyon ajanları
- Proteinleri denatüre ederler

DNA Pürifikasyonu

(Fenol/Kloroform/İzoamilalkol)

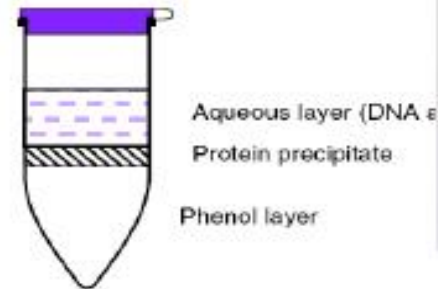
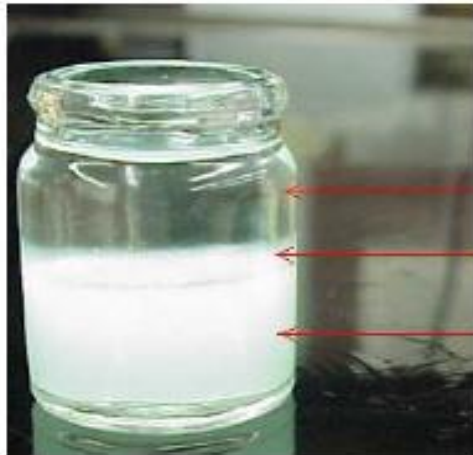
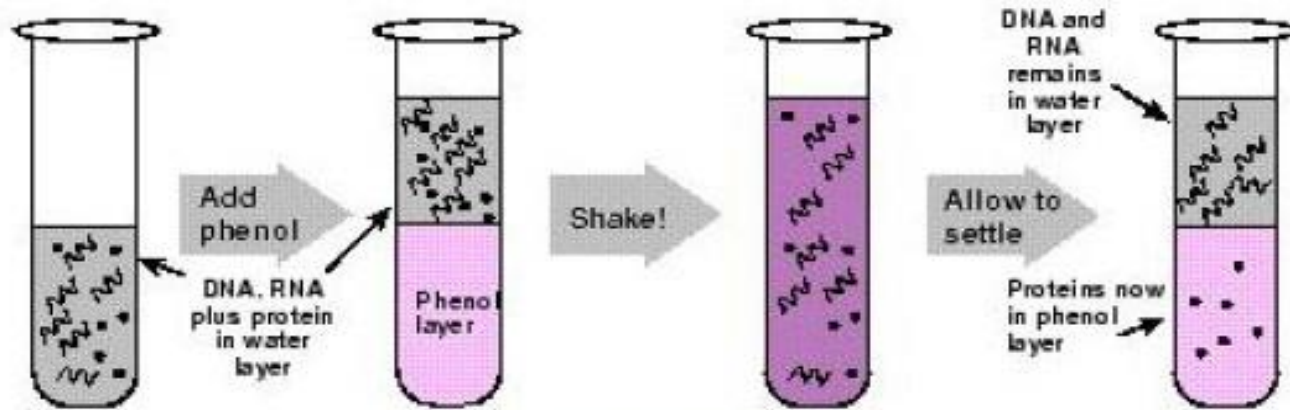
- **Fenol** bir denatüre edici olarak davranır, proteinler denatüre olarak çökelek oluştururlar ve ara fazda toplanırlar.
- **Kloroform**, fenolle genel olarak benzer özelliklere sahiptir, ayrıca sulu ve organik fazlar arasındaki dayanıklı olmayan bağları stabilize eder.
- **İzoamilalkol** de ara fazın stabilizasyonuna katkı sağlar ve aynı zamanda kabarcık oluşumunun önlenmesine yardım eder.

DNA Pürifikasyonu

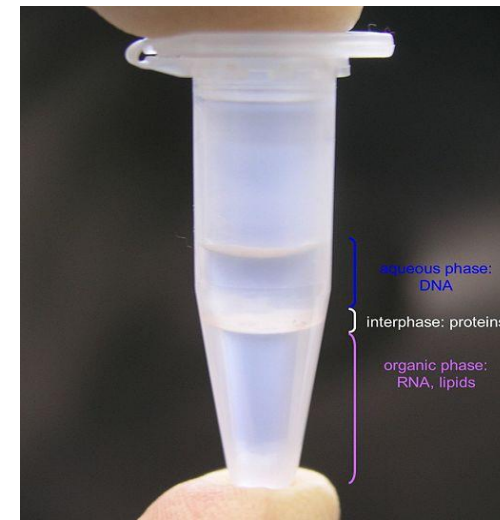
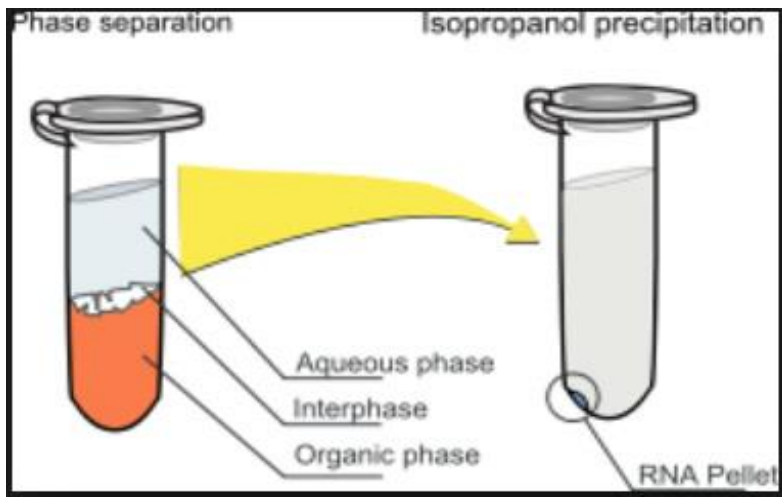
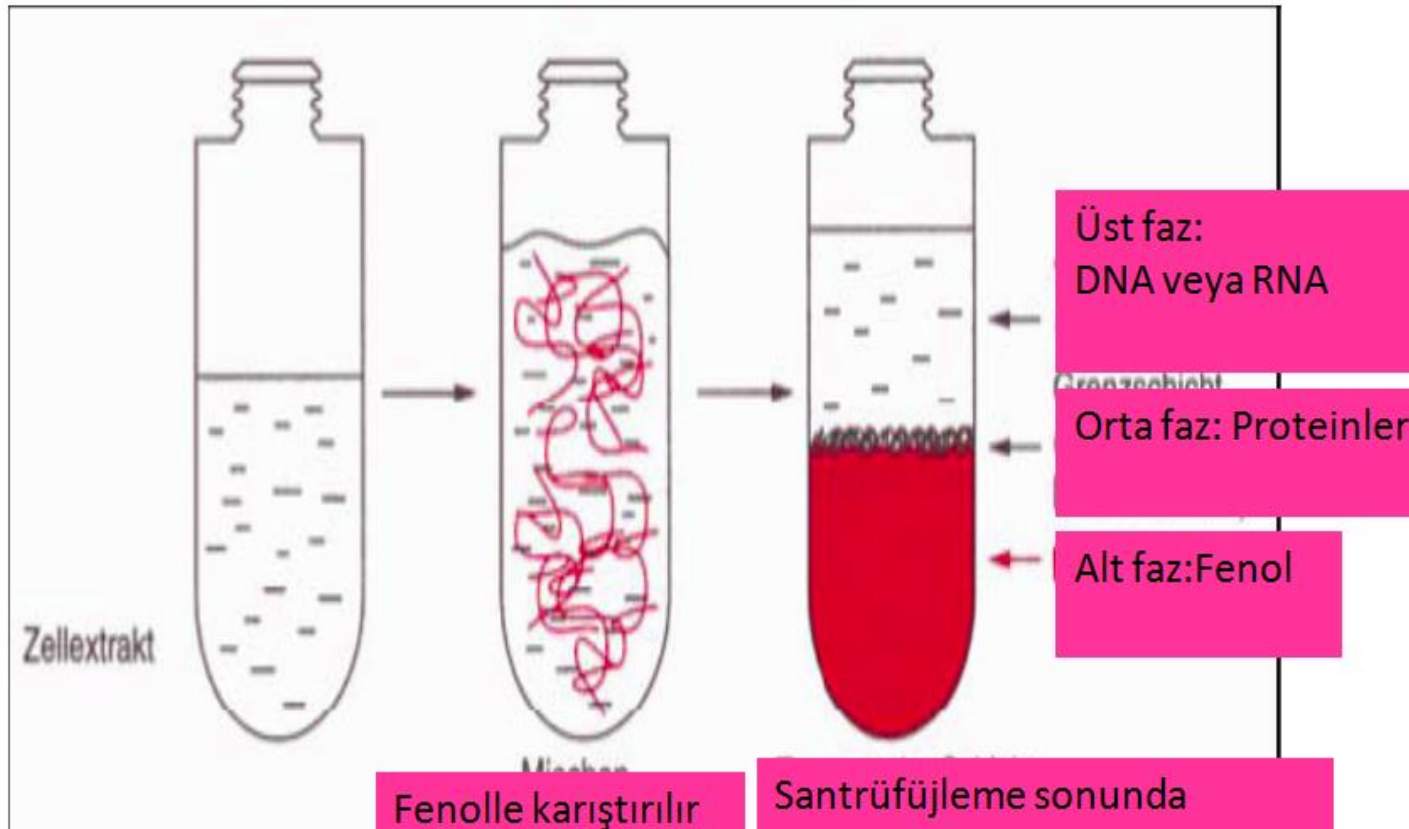
(Fenol/Kloroform/İzoamilalkol)

- Lizis buffer içinde DNA'ya 25/24/1 oranlarında hazırlanmış Fenol/Kloroform/İzoamilalkol eşit miktarda eklenir ve sürekli rotasyon yapılarak karıştırılır.
- DNA pürifikasyonu için kullanılacak fenol pH 8'de tamponlanmış olmalıdır (pH 8 fenolde DNA, pH 4.5 fenolde RNA sıvı fazda kalır)

Fenol-Kloroform Ekstraksiyonu

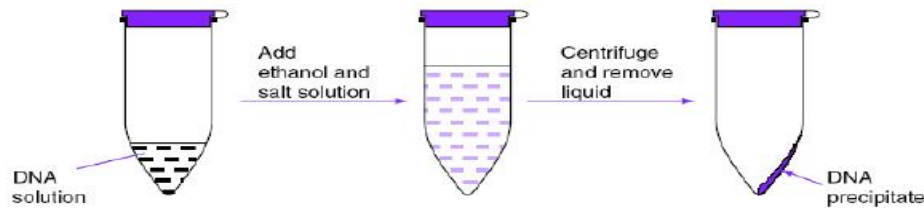


hidrofilik bileşenler sıvı fazda kalır: nükleik asitler, şeker, tuzlar....)



DNA'nın Presipite edilmesi

- Son aşamada nükleik asitler deterjanlardan ayrılır. Bu amaçla ilk olarak sıvı solusyon yüksek konsantrasyonlu NaCl (>0.8 M NaCl) ve CTAB (cetyltrimethylammonium bromide) karışımından oluşan bir presipitasyon çözeltisi ile muamele edilir.



DNA'nın Presipite edilmesi

- **Tuz** nükleik asit presipitatu oluşumu için gereklidir. Sodyum asetat tamponlama kapasitesi nedeniyle NaCl yerine tercih edilebilir. Bu koşullar altında alkol içerisinde suda olduğundan daha çözünür olan deterjanlar, nükleik asitler presipite olurken yıkanıp atılabilirler.
- Takip eden %70 alkol ile muamele, nükleik asitlerin geri kalan tuzdan arındırılarak ek saflaştırma yapılmasını sağlar.

Hazır Kit Kullanarak DNA Ekstraksiyonu

- Ticari kitler DNA pürifikasyonu için farklı metodlar kullanır. Tüm kitlerde hücre lizisi ve protein denaturasyon basamakları var. Bazı kitler DNA'yı bağlamak için silika-jel bazlı kolonlar içerir. DNA bağlanmasını diğer komponentleri uzaklaştırmak için yıkama basamakları izler ve DNA elusyonu düşük tuz içeren bufferlarla yapılır.

Hazır Kit Kullanarak DNA Ekstraksiyonu

- Diğer kitler yüksek konsantrasyonda tuzla protein denaturasyonu ve alkol presipitasyonu içerir.
- Bir grup kit ise DNA'nın monodisperse manyetik partiküllere bağlanması esasına dayanır.

Genomik DNA İzolasyonu Kitleri ile;

- ❑ Memeli Hücre ve Dokuları
 - ❑ Fare kuyruğu
 - ❑ Kan
 - ❑ Bakteri
 - ❑ Formalinle /parafinle fikse edilmiş/
gömülmüş Doku
 - ❑ Tükürük
- örneklerinden izolasyon yapılabilmektedir.

Elde ettiğimiz DNA'yı ;

Southern Blot,

PCR,

Genotipleme

Real Time PCR

Klonlama

Sekans Çalışmaları için kullanabiliriz.

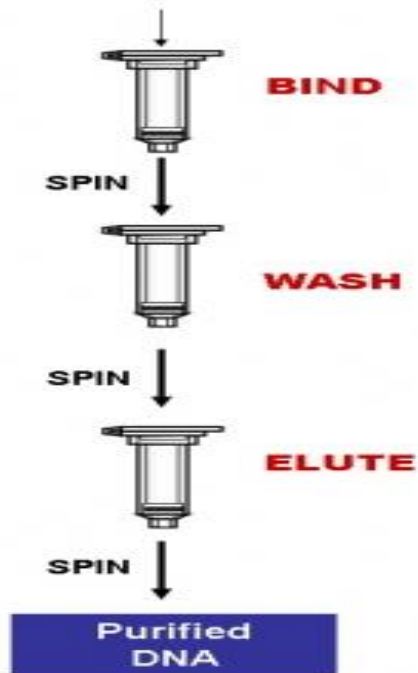
Elde ettiğimiz RNA'yı

- Nucleic Acid Etiketleme,
 - cDNA Kütüphanesi Oluşturma ,
 - RT-PCR (Endpoint),
 - Northern Blotting,
 - Real-Time PCR,
- çalışmaları için kullanabiliriz

DNA & RNA IZOLASYONU

b) SPIN KOLON TEKNİĞİ

Agarose Gel Slice



b) SPIN KOLON TEKNİĞİ

DNA-Protein Kompleksinin Çözülmesi ve Diğer Moleküllerden Ayrılması:

Günümüzde teknolojinin de gelişimi ile DNA'yı tutma özellikli **spin kolonları** kullanılmaya başlamıştır.

b) SPIN KOLON TEKNİĞİ

- Spin kolonlarının kullandığı fiziksel çözülmede ise, özel solüsyonlar ile DNA'nın tüpler içine özel olarak yerleştirilen **matriks tabakasına tutunması** sağlanır.
- Aynı aşamada DNA haricindeki moleküller matrikse tutunamadığı için ortamdan uzaklaşır.

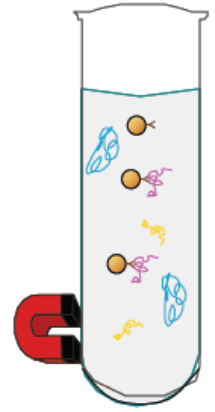
b) SPIN KOLON TEKNİĞİ

- Spin kolonlar belirli solüsyonlar ile yine DNA harici maddelerin tamamen uzaklaşması için “**yıkama**” denilen işleme tabi tutulurlar.
- Son aşamada ise DNA ile matriksi birbirinden elimine eden solüsyonların kullanıldığı “**Elüsyon**” aşaması vardır ve bu aşama ile birlikte DNA son halini almaktadır

c) Manyetik Bilye Tekniği

1. Manual Sistem
2. Robot (Otomatize Sistem)

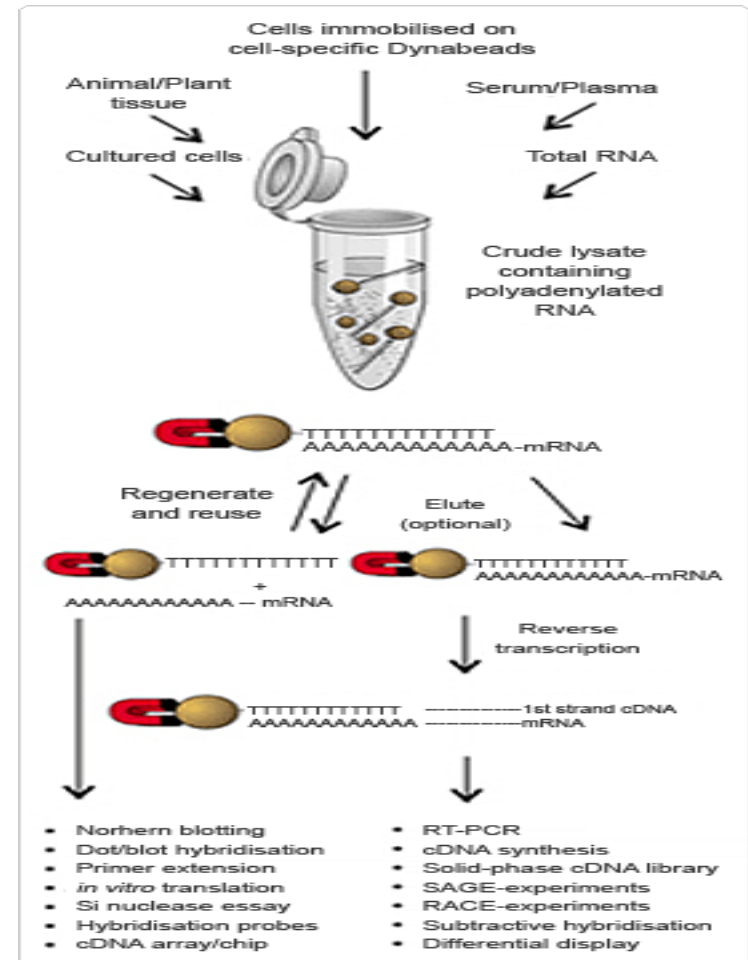
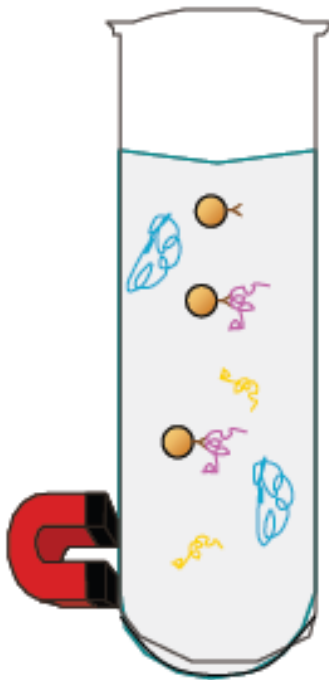
Manyetik Bilye Tekniği



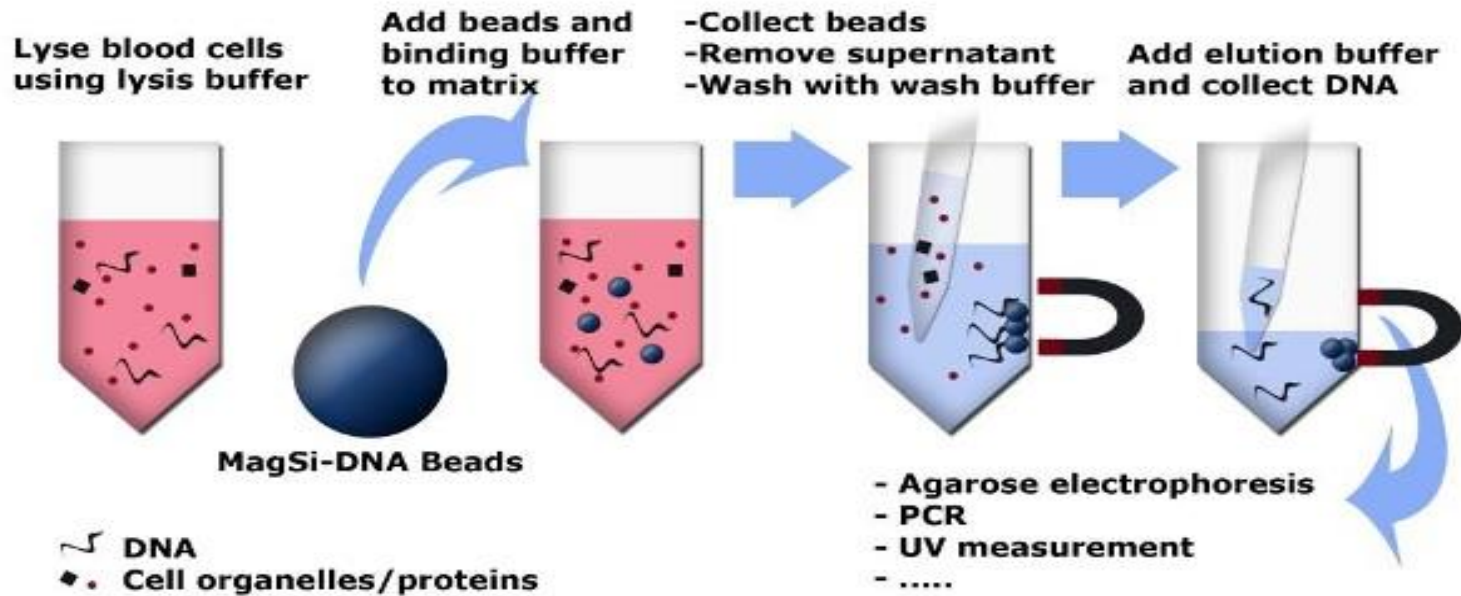
- Bu sistemin izolasyon prensibi özel polimerlerle kaplı manyetik bilye teknolojisine dayanmaktadır.
- Lökositlerden açığa çıkan DNA'nın bağlama tamponuyla manyetik bilyelere bağlanması sağlanır ve daha sonra proteinler, tuzlar ve alkolün uzaklaştırılmasından sonra DNA, manyetik rak üzerinde elüsyon tamponuyla bilyelerden sıvı faza alınır.

DNA & RNA IZOLASYONU

Manyetik Bilye Tekniği



Manyetik Bilye Tekniği

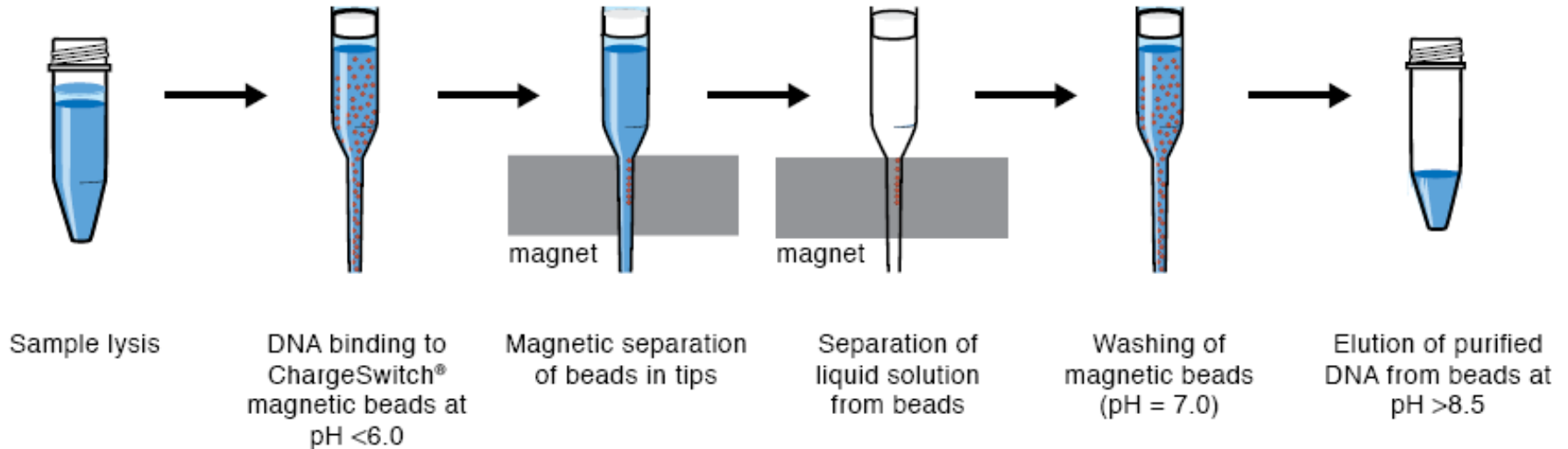


DNA & RNA IZOLASYONU

Manyetik Bilye Tekniği –(Otomatize Sistem)



Manyetik bilye ile ayırma işlemi



Genomik DNA'nın Spin Kolon Yöntemi ile Saflaştırılma Prosedürü

- Steril mikrosantrifüj tüpe 200 μ l kan örneği ilave edilir.
- Örneğe 20 μ l Proteinaz K ilave edilir
- 20 μ l RNaz A ilave edilir ve karıştırılır, oda sıcaklığında 2 dk inkübe edilir.
- 200 μ l Lizis/Binding tamponu ilave edilir ve vortex ile karıştırılarak homojen bir solüsyon elde edilir
- 55 °C de 10 dk inkübe edilerek proteinlerin parçalanması sağlanır.
- 200 μ l %96-100'lük etanol ilave edilir ve 5 saniye vortex ile karıştırılarak homojen bir solüsyon elde edilir.
- Homojen karışım spin kolon tüpüne ilave edilir.



Genomik DNA'nın Spin Kolon Yöntemi İle Saflaştırılma Prosedürü

- Kolon oda sıcaklığında 10,000 x g de 1 dk santrifüj edilir.
- Spin kolonu temiz bir tüpe alınır.
- 500 µl yıkama çözeltisi ilave edilir ve oda sıcaklığında 10,000 x g de 1 dk santrifüj edilir.
- Spin kolonu temiz bir tüpe alınır.
- 500 µl yıkama çözeltisi 2 ilave edilir ve oda sıcaklığında maksimum hızda 3 dk santrifüj edilir.
- Spin kolonu temiz steril mikrosantrifüj tüpüne alınır.
- 25-200 µl Elution buffer ilave edilir ve 1 dk oda sıcaklığında inkübe edilir.
- Oda sıcaklığında maksimum hızda 1 dk santrifüj edilir.
- Kolon uzaklaştırılır.
- Tüpte saf DNA bulunmaktadır.

Spin Kolon Yöntemi İle Tam Kandan RNA'nın Saflaştırılma Prosedürü

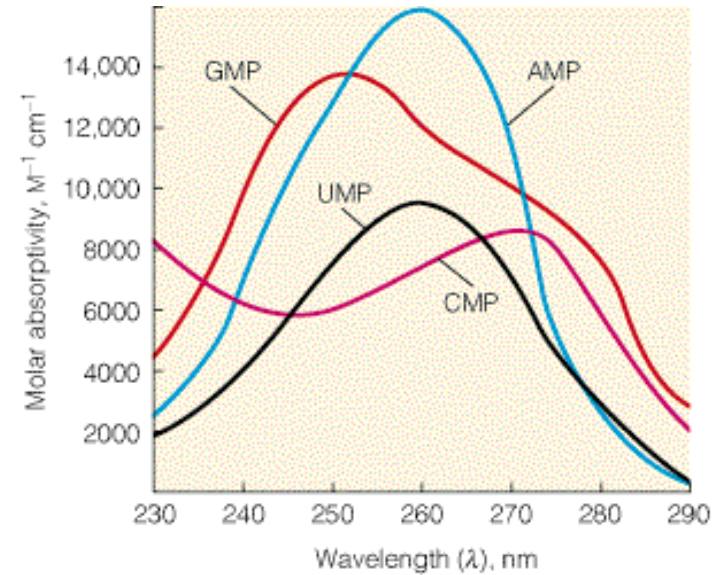
- 200 µl tam kan örneği 1,5 ml steril RNaz-free mikrosantrifüj tüpe alınır.
- 200 µl 2-merkaptoetanol içeren lizis tamponu ilave edilir.
- Vorteks ile iyice karıştırılır ve oda sıcaklığında 12,000 x g de 2 dk santrifüj edilir.
- Süpernatant kısmı 1,5 ml temiz RNaz-free mikrosantrifüj tüpe alınır.
- Mikrosantrifüj tüpe 200 µl %100 etanol ilave edilir ve vorteks ile karıştırılır.
- Homojen karışım spin kolon bulunan tüpe ilave edilir ve oda sıcaklığında 12,000 x g de 15 saniye santrifüj edilir. Tüpte kalan kısım atılır.

Spin Kolon Yöntemi İle Tam Kandan RNA'nın Saflaştırılma Prosedürü

- 700 μ l yıkama çözeltisi ilave edilir ve oda sıcaklığında 12,000 x g de 15 s santrifüj edilir.
- Spin kolonu temiz bir tüpe alınır.
- 500 μ l yıkama çözeltisi 2 ilave edilir ve oda sıcaklığında 12,000 x g de 15s santrifüj edilir.
- Yıkama işlemi tekrarlanır.
- Spin kolonu temiz bir tüpe alınır.
- 30-300 μ l RNaz-free su ilave edilir ve 1 dk oda sıcaklığında inkübe edilir.
- Oda sıcaklığında 12,000 x g de 2 dk santrifüj edilir.
- Kolon uzaklaştırılır.
- Tüpte saf RNA bulunmaktadır.

Miktar ve Kalite Tayini

- Nükleotidlerin heterosiklik halkaları 260 nm Dalga boyundaki ışığı maximum absorbe etme özelliği taşıdığından, bu dalga boyundaki absorbansı nükleik asitlerin miktarının bir ölçüsüdür. Buna göre DNA/RNA'nın miktar ve saflığı spektrofotometrede 260 ve 280 nm dalga boylarında elde edilecek değerlerden belirlenebilir.



Miktar Tayini

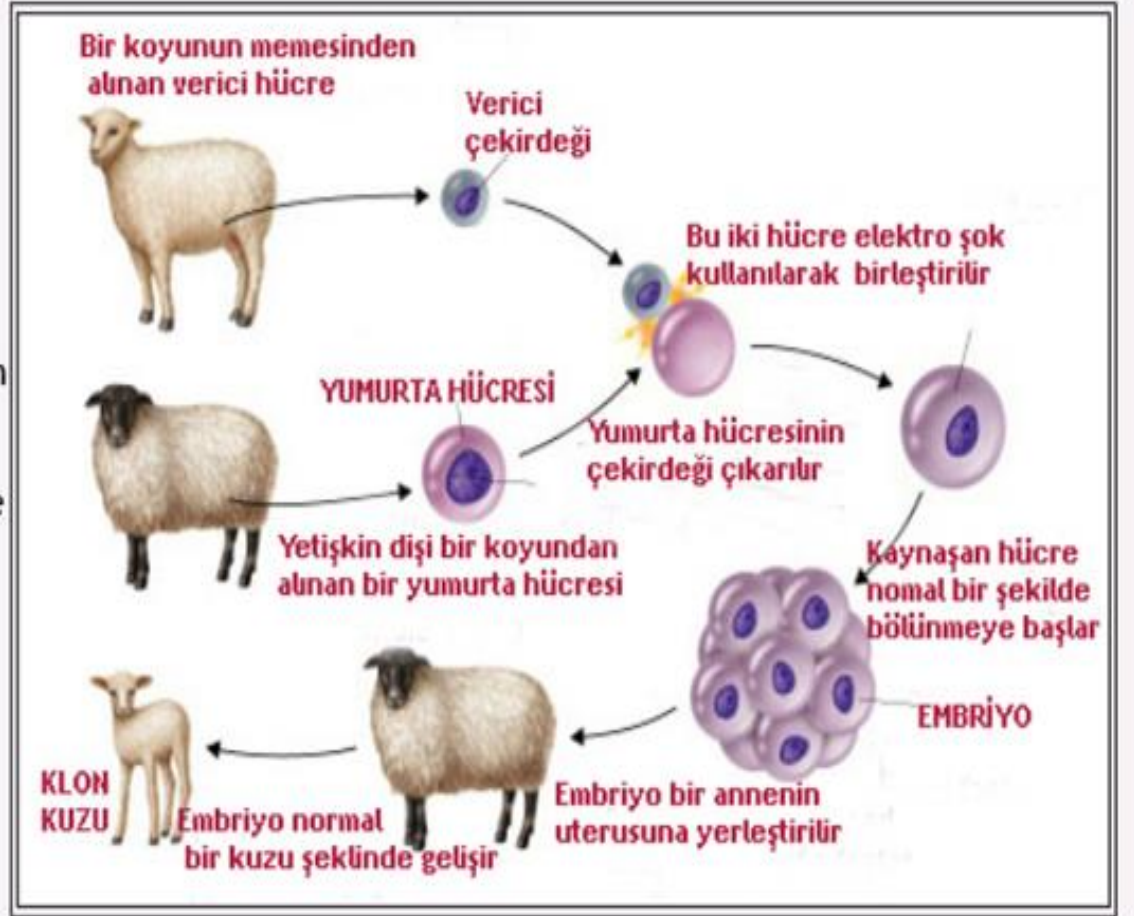
- 1 optik dansite (OD) çift iplikli DNA için 50 µg/ml. tek iplikli DNA veya RNA için 40 µg/ml. ve oligonükleotidler için ise 20 µg/ml'ye karşılık gelmektedir.
Örneğin, izole edilen DNA çift iplikli ise, miktarının belirlenmesi için aşağıdaki formülden yararlanılır.
- $\text{DNA}(\mu\text{g/ml}) = 260 \text{ nm.deki OD} \times \text{katsayı (50)} \times \text{seyreltme faktörü}$

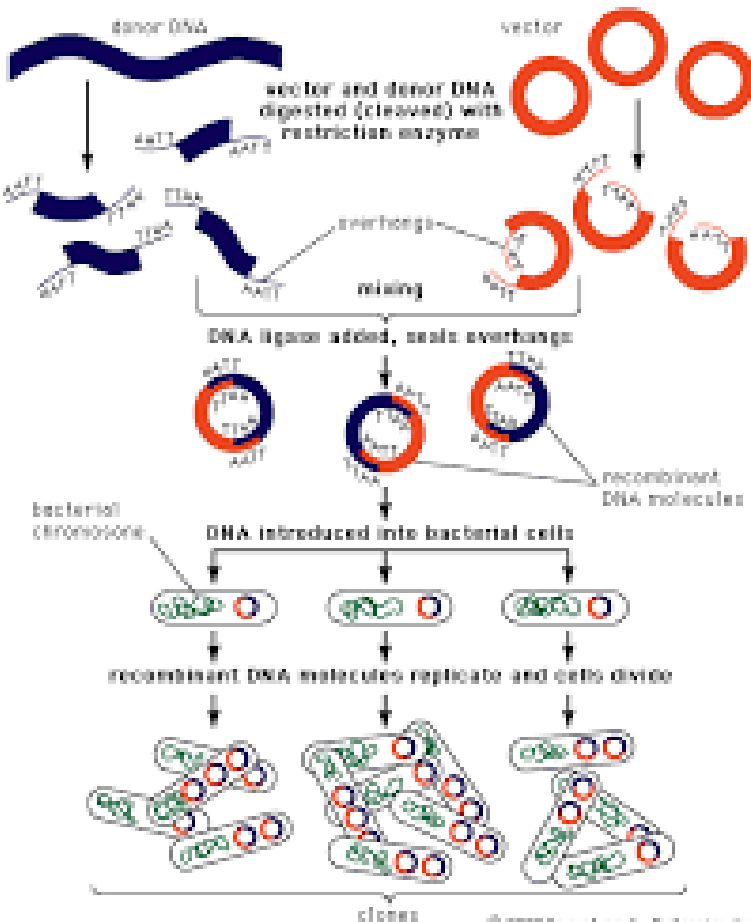
Kalite Tayini

- DNA 260 nm, proteinler 280 nm dalga boylarında pik yapmaktadır.
- Temiz bir DNA'da $A_{(260/280)}$ oranı 1.80 ile 2.0 arasında;
- 1.8'in altında elde edilen $A_{(260/280)}$ değeri protein kontaminasyonunu, 2'nin üzerinde elde edilen $A_{(260/280)}$ değeri de RNA kontaminasyonunu işaret etmektedir.
- PCR yönteminde ne kadar saf DNA izole edilebilirse bantların belirginliği o derece artmaktadır.

Klonlama

Klonlama prosedüründe, yetişkin bir koyunun memesinden alınan hücreler, **durgun faza** ulaşınca kadar kültürde kalır ve büyümesi ya da bölünmesi durdurulur. Kültürden bir **hücre** alınır, başka bir koyundan alınan **çekirdeği** çıkarılmış bir **yumurta**yla birleştirilir. Sonra **yumurta**, invitro gelişmeye başlar ve gelişmenin normal olduğu anlaşıldıktan sonra, **taşıyıcı anne koyunun** rahmine aktarılır. Ancak bu yolla yaratılan **277 embriyodan** sadece **29'u** taşıyıcı annelere nakledilebilecek normallikte gelişmiştir. Bu 29 örnekten ise sadece bir kuzu başarılı olmuştur. Aynı deney dizisinde, hücreler, erken embriyodan ve klonlanmaya çalışılan fetüsten de alınır. Ancak bu yolla bile başarı şansı %1'i geçmez.





İLAÇ ÜRETİMİNDE REKOMBİNANT DNA TEKNOLOJİSİ

